Estratto da **Biochimica e Terapia Sperimentale**
Anno I. Fascicolo XII.

Tentativi di immunizzazione del coniglio contro l'infezione sifilitica

PER IL

Dott. MARIO TRUFFI

MILANO
Industria Grafica Italiana STUCCHI CERETTI e C.
1910

Omaggio dell'Autore

ISTITUTO DI PATOLOGIA MEDICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
DIRETTORE INC. PROF. **MAURIZIO ASCOLI**

Tentativi di immunizzazione del coniglio contro l'infezione sifilitica.

Nota del Dott. MARIO TRUFFI
Direttore del comparto dermosifilopatico
dell'Ospedale S. Paolo di Savona.

La dimostrazione decisiva data da Metchnikoff e Roux della possibilità di trasmettere la sifilide agli animali, ha aperto il campo agli studi sperimentali sulla immunizzazione contro il virus sifilitico, studi che difficilmente si potevano istituire fino a che il materiale d'esperimento non poteva essere fornito che dall'uomo esclusivamente. Le uniche ricerche tentate in precedenza credo siano quelle di Neisser, il quale ha cercato inutilmente di provocare immunità passiva nell'organismo umano sano con iniezioni sottocutanee di siero di sifilitici, e quelle di Casagrandi e De Luca, che istituirono esperimenti di immunizzazione dell'uomo con filtrato di manifestazioni specifiche (sifilomi iniziali, papule mucose, manifestazioni terziarie), giungendo alla conclusione che tale filtrato può determinare immunità di durata brevissima (intorno ai 20 giorni) verso l'infezione sifilitica.

Metchnikoff e Roux hanno sperato di poter giungere ad una attenuazione del virus col passaggio attraverso scimmie inferiori, in modo da ottenere, colla inoculazione di tale virus attenuato, una specie di vaccinazione e di conseguente immunizzazione attiva di organismi sani. Essi hanno infatti constatato che il virus sifilitico, inoculato in serie ad alcune specie di scimmie (macacus rhesus), subisce modificazioni profonde, così da attenuarsi di fronte ad altra specie di scimmie (macaco di Giava), e da riuscire inoffensivo per lo chimpanzè, l'animale più sensibile alla sifilide. A conferma di questa constatazione gli stessi autori riportano un caso di inoculazione sperimentale ed un altro di probabile inoculazione accidentale all'uomo, in cui il virus passato per varie generazioni attraverso l'organismo della scimmia non ha determinato che lesioni locali fugaci non seguite da manifestazioni generali.

La possibilità della attenuazione del germe della sifilide attraverso ad organismi inferiori è ammessa pure da Finger e Landsteiner;

ma Neisser, che ha fatto in proposito numerose esperienze, tiene un atteggiamento di riserva.

Ancora Metchnikoff e Roux hanno ricercato se la inoculazione di virus sifilitico filtrato alla candela o sottoposto all'azione del calore (1 ora a 51°) fosse capace di conferire immunità allo chimpanzè. Ma i loro risultati furono completamente negativi, analogamente a quelli dei tentativi di Finger e Landsteiner (introduzione di virus sifilitico fresco od ucciso al calore sotto la cute o nei muscoli di cinocefali). Neisser pure ha potuto constatare che il virus sifilitico vivente introdotto sotto cute, nelle vene, nel peritoneo, non vale a determinare immunità della cute contro successive inoculazioni.

Analoghe ricerche furono praticate da Bertarelli, il quale ricercò la possibilità di immunizzare dei conigli contro la infezione sifilitica della cornea. Bertarelli si servì nelle sue prove di iniezioni ripetute (19 nel corso di sei mesi) di cornee di coniglio ricche di spirochete, spappolate in mortaio. L'esito di tali prove è riassunto dal Bertarelli stesso in queste parole: *col metodo accennato si ottiene al più un ritardo nell'insorgenza della cheratite, ma non pare si debba sperar molto in una reale immunizzazione per tale via, anche protraendo il processo molto a lungo.*

Neisser ha tentato di provocare immunità verso il germe della sifilide colla iniezione di estratti, in soluzione fisiologica, di organi di scimmie sifilizzate. Ma sopra sei scimmie sottoposte a tale trattamento cinque si mostrarono sensibili alla inoculazione cutanea di virus sifilitico; in una sola, un *cynocephalus babuinus*, il risultato fu negativo.

Sulla possibilità di suscitare colla iniezione sotto cute di materiale sifilitico sterilizzato la formazione di anticorpi è pure basato il metodo della così detta *terapia eziologica* della sifilide, col quale Kraus e Spitzer hanno asserito di essere riusciti, in molti casi, ad arrestare il decorso dell'infezione. È da notare però che i dati ottimistici di Kraus e di Spitzer non sono stati in tutto confermati da altri autori (Brandweiner, Kreibich, Kreus).

Tentativi di terapia antiluetica con filtrati di manifestazioni sifilitiche, istituiti da Casagrandi e De Luca sortirono esito negativo.

Negli animali furono, da Neisser specialmente, fatte ricerche di immunizzazione passiva collo siero di uomini o di scimmie sifilizzate; ma ne risultò che, in qualunque periodo della malattia ed in qualsiasi dose, lo siero non vale a determinare immunità alcuna.

Anche Metchnikoff e Roux avevano notato la mancanza di potere immunizzante nello siero di sifilitici. Invece *in vitro* hanno osservato che lo siero di sifilitico può avere azione dannosa sul virus; ciò che sembrerebbe confermato dalle esperienze di Hoffmann e Provazek, i quali hanno trovato che nello siero di sifilitici i movimenti delle spirochete sono più rapidamente arrestati che nello siero di sani. Ma non è da trascurare che i risultati di Hoffmann e Provazek sono stati contraddetti da Landsteiner e Mucha, e che Neisser non ha potuto mettere in evidenza l'azione dannosa diretta dello siero

di sifilitici, nè di quello di animali immuni naturalmente o inoculati con materiale sifilitico sotto cute ed endovenosamente, sul virus sifilitico.

Per quanto i risultati delle esperienze fatte sulle scimmie non lasciassero troppe illusioni sull'esito di analoghe ricerche praticate nel coniglio, ho voluto ad ogni modo istituire anche in questo animale, che, come le recenti ricerche hanno dimostrato, è pure sensibile verso il virus sifilitico, qualche tentativo di immunizzazione.

Questi tentativi riguardano tanto il conferimento di una immunità passiva con siero di conigli da lungo tempo infettati di sifilide ed apparentemente sani, quanto lo stabilirsi di una immunità attiva in seguito alla iniezione sottocutanea di emulsione di fegato eredosifilitico, ottenuta diluendo in mortaio con soluzione fisiologica, nella proporzione di 1 a 20, del fegato ricchissimo di spirochete, triturato passato allo staccio e seccato in sottile strato su lamina di vetro al termostato.

Le inoculazioni dei conigli furono costantemente praticate allo scroto e talora anche alla regione sopracigliare, in tasche cutanee, con virus di passaggio (VII passaggio), avendo avuto cura di usare per ciascuna serie lo stesso virus. La diagnosi delle lesioni cutanee fu sempre confermata dall'esame microscopico.

Ecco i risultati delle mie esperienze:

TENTATIVI DI IMMUNIZZAZIONE PASSIVA

Conigli maschi del peso di circa Kgr. 2.

N. 1. (Controllo) 20-VII - Inoculato allo scroto sinistro ed alla regione sopracigliare destra con virus di VII° passaggio (sifiloma della regione sovraorbitale)
5-VIII - Piccolo nodo allo scroto - Reperto di spirochete pallide positivo.
3-IX - Grosso sifiloma allo scroto. Nulla alla regione sovraorbitale.
23-XI - Il coniglio viene a morte. Persiste ancora un enorme sifiloma, che ha preso aderenza colla vaginale del testicolo.

N. 2. - (Controllo) 20-VII - Inoculato come il N. 1.
10-VIII - Piccoli nodi allo scroto.
9-IX - Grosso sifiloma - Reperto positivo di spirochete.
13-XI - Il sifiloma si è chiuso da alcuni giorni.

N. 3. - 19-VII - Iniezione endoperitoneale di cc. 3,5 di siero di coniglio immune (1).
20-VII - Inoculazione come al N. 1, bilaterale allo scroto.
2-VIII - Piccolo nodo sclerotico allo scroto sinistro. Reperto spirochete positivo.
5-VIII - Id. a destra. Adenite inguinale bilaterale.
5-X - Le manifestazioni, che si erano fatte più appariscenti, sono da qualche giorno scomparse.

(1) Vedi osserv. I^a delle esperienze di immunizzazione artificiale del coniglio nella mia pubblicazione *Trasmissione della sifilide al coniglio.* — Biochimica e Terapia sperimentale. A. - I.° fasc. VII.°

N. 4. - 19-VII - Iniezione endoperitoneale di siero (cc. 1) come al N. 3.

20-VII - Inoculazione come al N. 3.

19-VIII - Da alcuni giorni sono comparse piccole sclerosi al polo inferiore di entrambe le borse scrotali. Numerose spirochete.

13-XI - Notasi soltanto lieve nodo cicatriziale alla borsa scrotale sinistra, dove esisteva sifiloma ben manifesto.

27-XI - Nella cavità scrotale sinistra, aderente, pare, alla vaginale, senza rapporto alcuno colla parete dello scroto, si trova un nodo duro, grosso come un pisello, ricchissimo di spirochete.

N. 5 - 19-VII - Iniezione come al N. 3 (cc. 4).

20-VII – Inoculazione come al n. 3.

19-VIII - Non si è notata che una fugace lesione bilaterale, con reperto però positivo di spirochete. Ghiandola ingrossata all'inguine sinistro.

17-XI - Da alcuni giorni si nota una tumefazione sulla coda dell'epididimo destro, la quale è andata lentamente ingrossando fino a raggiungere le dimensioni di una grossa nocciuola. Dapprima libera completamente nella loggia scrotale, mostra ora tendenza ad aderire al polo inferiore della borsa; è dura e come bernoccoluta. Viene excisa. Al taglio ha l'aspetto di una gomma fusa nella parte centrale. Nella zona periferica si trovano, al paraboloide, numerosissime spirochete pallide. In preparati allestiti col metodo Volpino-Bertarelli si vedono nella zona marginale miriadi di spirochete; poche spirochete profondamente alterate nella porzione centrale.

N. 6. - 8-VI. - Iniezione endoperitoneale di cc. 6 di siero di coniglio immune

9-VI - Inoculazione con virus settimo passaggio, bilaterale allo scroto.

26-VII - Sifiloma ulcerato allo scroto destro.

TENTATIVI DI IMMUNIZZAZIONE ATTIVA

Conigli maschi di circa 1 Kg, di peso.

N. 1 - (Controllo) 9-X - Inoculato bilateralmente allo scroto con materiale del coniglio N. 2 della serie precedente.

21-X - Da alcuni giorni si notano piccoli nodi bilaterali, con spirochete. Adenite inguinale.

30-XI - Le sclerosi sono andate lentamente ingrossando. Se ne nota una per lato, grossa come una larga lenticchia.

N. 2. - 7-X - Iniettato sottocute di 2 cc. di emulsione di fegato di eredo-sifilitico.

8-X - Seconda iniezione di 2 cc. some sopra.

9-X - Inoculazione come al N. 1.

21-X - Nodetto sclerotico allo scroto destro. Reperto positivo di spirochete.

31-X - Sclerosi bilaterali grosse come lenticchie. Adenite.

30-XI - Voluminosi sifilomi (uno per lato) larghi come una moneta da 2 cent.

N. 3. - 7-X - 8-X - 9-X - Come il N. 2.

30-XI - Decorso come nel coniglio N. 2. Meno accentuata l'adenite. Ora esistono due grossi sifilomi.

N. 4. - 7-X - 8-X - 9-X - Come il N. 2.

30-XI - Grossi sifilomi bilaterali ed adenite

N. 5. - 7-X - Iniezione di 2 cc. di emulsione di fegato.

8-X - 12-X - Id. id.

13-X - Ore 11 - Iniezione come sopra. Ore 18 — Inoculazione come al N. 1.
27-X - É evidente il risultato positivo dell'inoculazione.
12-XI - Sifilomi bilaterali grossi come una moneta da un centesimo. Adenite inguinale.
30-XI - Sifilomi enormi allo scroto.
N. 6 e 7. - Iniettati ed inoculati come il N. 5. Il decorso è identico.
30-XI - Sifilomi bilaterali grossi come nocciuole; adenite inguinale accentuata.
N. 8. - 7-X - 8-X - 12-X - 13-X - Iniettato come il N. 5.
21-X - 22-X - Nuove iniezioni di cmc. 2 e 3 rispettivamente.
12-XI - Inoculazione come al N. 1.
23-XI - Risultato positivo già evidente.
30-XI - Le lesioni sclerotiche hanno raggiunto già le dimensioni di un mezzo cece. Adenite bilaterale.
N. 9. - Iniettato ed inoculato come il N. 8.
30-XI - Lesioni caratteristiche bilaterali, appena un pò meno accentuate che nel N. 8.

L'esito delle mie ricerche è stato adunque negativo. Nè l'iniezione di siero di conigli immuni, nè quella di dosi notevoli di organi di feto eredo-sifilitico hanno provocato immunità negli animali trattati. Non credo infatti di potere attribuire con sicurezza alla iniezione di siero la relativa benignità delle lesioni cutanee nei conigli 3-4-5 della prima serie. Il decorso ulteriore della malattia dimostra anzi, per alcuni almeno di questi conigli, la possibilità dello svolgersi di alterazioni gravi lungi dal primo focolaio di infezione. Tuttavia sarà necessario ritentare gli esperimenti con dosi maggiori di siero, per escludere il dubbio che i risultati negativi da me ottenuti possano essere legati alla poca quantità di materiale immunizzante introdotto. (1).

Nella serie dei conigli trattati con fegato umano eredo-sifilitico si è riscontrata una molto maggiore intensità dei fenomeni locali che nel coniglio di controllo. Ciò che potrebbe lasciar credere che l'iniezione di tali prodotti valga a determinare uno stato anafilattico. Ma le mie esperienze sono troppo poco numerose, e, d'altra parte, così varia è la reazione locale dei diversi conigli all'azione del virus, che sarebbe imprudenza il fare affermazioni categoriche a questo proposito.

In conclusione le ricerche sovra esposte dimostrano che, analogamente a quanto è stato dimostrato per le scimmie,, l'introduzione sottocutanea di siero di coniglio immune o di materiale umano ricco di spirochete non vale ad immunizzare l'organismo del coniglio contro il virus sifilitico inoculato per via cutanea.

(1) In un coniglio ho, più tardi, iniettato sotto cute in due giorni successivi cc. 21 di siero non inattivato di coniglio affetto da gravi sifilomi allo scroto. Inoculazione nel giorno stesso della seconda iniezione. Dopo 12 giorni trovai spirochete nei piccoli nodi formatisi nei punti inoculati. Al 24° giorno esistevano piccole, caratteristiche sclerosi.

BIBLIOGRAFIA

BERTARELLI E. — Intorno alla immunizzazione del coniglio verso la sifilide corneale. *Rivista di Igiene e sanità pubblica.* 1907 N. 20.

CASAGRANDI E DE LUCA. — Tentativi di profilassi e terapia antisifilitica coi filtrati amicrobici di manifestazioni sifilitiche. *Annali di Igiene sperimentale.* 1906 fasc. I.

FINGER E LANDSTEINER. — Untersuchungen über Syphilis an Affen. *Sitzungber. der Kaiser. Akademie d. Wissenschaften in Wien.* B. 114. 1905.

— — *Ibidem.* B. 115. 1906.

HOFFMANN. — *Dermatologische Zeitschrift.* B. 13 pag. 565. 1906.

KRAUS R. — Zur Aetiologie, Pathologie und exper. Therapie der Syphilis. *Wiener Klin. Wochenschrift.*

LANDSTEINER E MUCHA. — *Wiener Klin. Wochenschrift.* 1906 N. 45.

METCHNIKOFF E ROUX. - Etudes expérimentales sur la syphilis. 2 et 3 memoire. *Aunales de l'Institut Pasteur.* 1904. Vol. 18.

NEISSER. — Was wissen wir von einer Serumtherapie bei Syphilis et. *Archiv f. Dermatologie.* B. 44.

NEISSER. — Die esperimentelle Syphilisforschung. *Verhandlungen d. deutsch. Dermatogischen Gesellschaft.* Bern. 1906.

SPITZER. — Zur ätiologische Therapie der Syphilis. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1905 e 1906.